

**ANTIANGIOGENESIS EKSTRAK BIJI *Nigella sativa* TERHADAP
JUMLAH PEMBULUH DARAH MEMBRAN KORIOALANTOIS
TELUR AYAM BEREMBRIO TERINDUKSI bFGF SECARA
MAKROSKOPIS DAN MIKROSKOPIS**



ERDI MALUTAMA

2443013077

PROGRAM STUDI S1

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA

2017

**ANTIANGIOGENESIS EKSTRAK BIJI *Nigella sativa* TERHADAP
JUMLAH PEMBULUH DARAH MEMBRAN KORIOALANTOIS
TELUR AYAM BEREMBRIO TERINDUKSI bFGF SECARA
MAKROSKOPIS DAN MIKROSKOPIS**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
Memperoleh gelar Sarjana Farmasi Program Studi Strata 1
Di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

OLEH :
ERDI MALUTAMA
2443013077

Telah disetujui pada tanggal 30 Mei 2017 dan dinyatakan LULUS

Pembimbing I



Dr. Iwan Sahrial Hamid, drh., M. Si.
NIP. 196807131993031009

Pembimbing II



Angelica Kresnamurti, M. Farm., Apt.
NIK. 241.00.0441

Mengetahui,
Ketua Penguji



Suryo Kuncorojakti, drh., M. Vet.
NIP. 198507012009121009

**LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul **Antiangiogenesis Ekstrak Biji *Nigella sativa* Terhadap Jumlah Pembuluh Darah Membran Korioalantois Telur Ayam Berembrio Terinduksi bFGF Secara Makroskopis dan Mikroskopis** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta. Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 30 Mei 2017



Erdi Malutama

2443013077

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Surabaya, 30 Mei 2017



Erdi Malutama

2443013077

ABSTRAK

ANTIANGIOGENESIS EKSTRAK BIJI *Nigella sativa* TERHADAP JUMLAH PEMBULUH DARAH MEMBRAN KORIOALANTOIS TELUR AYAM BEREMBRIO TERINDUKSI bFGF SECARA MAKROSKOPIS DAN MIKROSKOPIS

ERDI MALUTAMA

2443013077

Kanker merupakan pertumbuhan sel jaringan tubuh yang tidak normal. Sel kanker membutuhkan nutrisi untuk tumbuh dan berkembang sehingga merangsang pengeluaran zat pertumbuhan yang disebut angiogenesis. Biji jintan hitam mengandung timokuinon yang mampu meningkatkan ekspresi gen-gen aktivator apoptosis sehingga sel kanker mengalami kematian. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek antiangiogenesis ekstrak etanol biji jintan hitam pada membran korioalantois telur ayam berembrio melalui pengamatan makroskopis dan mikroskopis jumlah pembuluh darah dan mengetahui dosis optimal dalam menimbulkan aktivitas antiangiogenesis. Pada penelitian ini terdapat 6 kelompok yaitu kelompok I (bFGF 60 ng dan Tris-HCl), kelompok II (Tris-HCl dan DMSO 5 %), kelompok III (bFGF 60 ng dan ekstrak dosis 75 µg), kelompok IV (bFGF 60 ng dan ekstrak dosis 90 µg), kelompok V (bFGF 60 ng dan ekstrak dosis 110 µg) dan kelompok VI (bFGF 60 ng dan celecoxib 60 mg). Telur ayam berembrio yang sudah diberi perlakuan kemudian dihitung jumlah pembuluh darah baru pada membran korioalantois. Hasil penelitian menunjukkan rerata pertumbuhan jumlah pembuluh darah baru terendah secara makroskopis pada kelompok V yaitu $0,50 \pm 0,577$ dan mikroskopis pada kelompok V yaitu $25,75 \pm 4,573$. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa adanya aktivitas antiangiogenesis pada membran korioalantois setelah pemberian ekstrak etanol biji jintan hitam dosis 75 µg, 90 µg, 110 µg dan diperoleh dosis optimal yaitu 75 µg.

Kata kunci : Antiangiogenesis, *Nigella sativa*, Pembuluh Darah, Membran Korioalantois.

ABSTRACT

ANTIANGIOGENIC ACTIVITY OF *Nigella sativa* SEEDS EXTRACT AGAINST THE NUMBER OF BLOOD VESSELS OF CHORIOALLANTOIC MEMBRANE MACROSCOPICALLY AND MICROSCOPICALLY OF bFGF INDUCED EMBRYONATED CHICKEN EGGS

ERDI MALUTAMA

2443013077

Cancer is the growth of abnormal body cells. Cancer cell needs nutrients to grow and develop so it will stimulate the release of growth substances that is called angiogenic. Black cumin seed contains tymoquinone which is capable to enhance the expression of apoptotic activator genes so, it cause the death of cancer cell. This study aims to determine the antiangiogenic effect of ethanol extract of black cumin seed in chorioallantoic membrane of embryonated chicken egg through the observation of macroscopically and microscopically amount of blood vessels and to determine the optimal dose to appear antiangiogenic activity. In this study, there were 6 groups. Group I (bFGF 60 ng and Tris-HCl), group II (Tris-HCl and DMSO 5 %), group III (bFGF 60 ng and extract dose 75 µg), group IV (bFGF 60 ng and extract dose 90 µg), group V (bFGF 60 ng and extract dose 110 µg) and group VI (bFGF 60 ng and celecoxib 60 mg). Embryonated chicken egg that have been treated then counted the amount of new blood vessel in the chorioallantoic membrane. The results showed that the lowest average growth of new blood vessel amount was macroscopically observed at group V which was 0.50 ± 0.577 and microscopically observed at 25.75 ± 4.573 . Based on the results of this study, it could be concluded that there is antiangiogenic activity on the chorioallantoic membrane after administration of ethanol extract of black cumin seed at dose 75 µg, 90 µg and 110 µg with the optimal dose of 75 µg.

Keywords : Antiangiogenic, *Nigella sativa*, Blood Vessels, Chorioallantoic Membrane.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan karunianya, sehingga skripsi dengan judul **Antiangiogenesis Ekstrak Biji *Nigella sativa* Terhadap Jumlah Pembuluh Darah Membran Korioalantois Telur Ayam Berembrio Terinduksi bFGF Secara Makroskopis dan Mikroskopis** dapat terselesaikan. Penyusunan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu selama proses pembuatan naskah skripsi ini :

1. Yesus Kristus yang telah memberkati dan menyertai dari awal hingga terselesaikannya naskah skripsi ini.
2. Bapak Atdudi Unde, Ibu Eriana, adik saya Erdo Pratomo dan seluruh keluarga yang selalu memberikan dukungan baik secara materil maupun moril serta semangat yang besar sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik dan tepat waktu.
3. Drs. Kuncoro Foe, G. Dip. Sc., Ph. D., Apt., selaku Rektor Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya atas kesempatan yang diberikan untuk menempuh pendidikan di Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
4. Sumi Wijaya, S. Si., Ph. D., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya atas kesempatan yang diberikan untuk menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

5. Dr. Lanny Hartanti, S. Si., M. Si., selaku Ketua Program Studi S1 Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya atas kesempatan dan semangat yang diberikan selama menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
6. Dra. Idajani Hadinoto, MS., Apt., selaku Penasihat Akademik yang terus memberikan semangat dan motivasi selama menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
7. Dr. Iwan Sahrial Hamid, drh., M. Si., selaku pembimbing I yang telah meluangkan waktu dan tenaga dalam memberikan bimbingan dan pengarahan sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.
8. Angelica Kresnamurti, S. Si., M. Farm., Apt., selaku pembimbing II yang telah meluangkan waktu dan tenaga dalam memberikan bimbingan dan pengarahan sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.
9. Suryo Kuncorojakti, drh., M. Vet., selaku ketua penguji dan Elisabeth Kasih, S. Farm., M. Farm. Klin., Apt., selaku penguji yang telah memberikan saran dan masukan untu penyelesaian skripsi ini.
10. Seluruh dosen pengajar dan Staf Tata Usaha Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah membagikan banyak sekali ilmu pengetahuan, memberikan dukungan dan bantuan untuk keberlangsungan kegiatan pembelajaran.
11. Bapak Tri, Bapak Anang, Bapak Dwi, Bapak Ari dan Ibu Mega selaku laboran yang telah membantu dalam peminjaman alat dan pengerjaan skripsi ini.
12. Teman-teman seperjuangan skripsi “Geng Telur” yang terdiri dari Albert Sebastian Gani, Bernardus D. L. T. K., E. Kristin Yuliana dan

Stella Calista Paramitha yang sudah mengerjakan dan berjuang bersama-sama untuk menyelesaikan skripsi ini.

13. Teman-teman seperjuangan angkatan 2013 dan “KRS *Online*” yang terdiri dari Kadek Bambang Sutrasena Arwita, Indrayansah B. P. Siahaan, Indra Gunawan, Suwandi Wonowijaya, Albertus Kristian Siswanto, Bernardus D. L. T. K., Billy S. Putra, Friantana Rayadi, Daniel Wicaksono Adi , Putu A. P. dan Juan Satria G.
14. Badan Perwakilan Mahasiswa dan Ormawa Fakultas Farmasi, Jaringan Aktivis Bunda Theresa, PSM Cantate Domino dan Badan Perwakilan Mahasiswa Universitas periode 2016-2017 yang sudah memberikan dukungan hingga terselesaikannya skripsi ini.
15. Sahabat-sahabat saya dan semua pihak yang mendukung serta memberikan semangat hingga terselesaikannya skripsi ini.

Mengingat karena keterbatasan pengalaman, pengetahuan maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari kekurangan dalam penulisan naskah skripsi ini, maka skripsi ini masih jauh dari sempurna sehingga penulis sangat mengharapkan kritik dan saran dari semua pihak agar naskah skripsi ini dapat lebih disempurnakan. Semoga penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi kepentingan masyarakat.

Surabaya, Mei 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI	ii
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	iii
LEMBAR PERNYATAAN KARYA ILMIAH NON PLAGIAT	iv
ABSTRAK.....	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
SINGKATAN	xviii
 BAB I PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang Penelitian.....	1
1.2 Perumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Hipotesis Penelitian	7
1.5 Manfaat Penelitian	7
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	 8
2.1 Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>).....	8
2.1.1 Klasifikasi.....	8
2.1.2 Morfologi.....	9
2.1.3 Kandungan Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>)	9
2.1.4 Manfaat Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>)	10
2.2 Ekstrak.....	11

	Halaman
2.2.1 Standarisasi.....	11
2.2.2 Parameter Non Spesifik.....	12
2.2.3 Parameter Spesifik.....	13
2.3 Skrining Fitomikia.....	14
2.3.1 Alkaloid.....	14
2.3.2 Saponin.....	15
2.3.3 Tanin.....	15
2.3.4 Flavonoid.....	16
2.3.5 Kuinon.....	16
2.3.6 Terpen.....	17
2.4 Kanker	17
2.5 Mekanisme Angiogenesis.....	20
2.6 Celecoxib.....	23
2.7 <i>basic Fibroblast Growth Factor</i> (bFGF).....	23
2.8 Membran Korioalantois Telur Ayam Berembrio	26
 BAB III METODE PENELITIAN	 29
3.1 Jenis Penelitian	29
3.2 Bahan dan Alat Penelitian	29
3.2.1 Bahan Penelitian.....	29
3.2.2 Alat Penelitian	30
3.3 Metode Penelitian.....	30
3.3.1 Identifikasi Biji Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>)..	30
3.3.2 Standarisasi Mutu Simplisia.....	31
3.3.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam...	33
3.3.4 Standarisasi Ekstrak Kental Tanaman.....	33
3.3.5 Skrining Fitokimia.....	34

	Halaman
3.3.6 Pembuatan Induktor Angiogenesis dengan bFGF.....	35
3.3.7 Pembuatan Bahan Uji.....	35
3.3.8 Uji Daya Hambat terhadap Angiogenesis.....	36
3.3.9 Pengamatan Makroskopis Respon Angiogenesis Kelompok Kontrol dan Uji.....	39
3.3.10 Pembuatan Sediaan Histopatologi Membran Korioalantois	39
3.3.11 Pengamatan Mikroskopis Respon Angiogenesis Kelompok Kontrol dan Uji.....	40
3.4 Alur Penelitian.....	41
3.5 Variabel Penelitian.....	42
3.6 Rancangan Penelitian.....	42
3.7 Analisis Data.....	42
 BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	 44
4.1 Hasil Penelitian.....	44
4.1.1 Hasil Makroskopis Biji Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>).....	44
4.1.2 Proses Pembuatan Serbuk Biji Jintan Hitam....	45
4.1.3 Hasil Standarisasi Simplisia Tanaman Uji.....	45
4.1.4 Ekstraksi Serbuk Biji Jintan Hitam.....	47
4.1.5 Hasil Standarisasi Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam.....	47
4.2 Pembahasan.....	56

	Halaman
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	64
5.1 Kesimpulan	64
5.2 Saran	64
DAFTAR PUSTAKA.....	65
LAMPIRAN	73

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Komposisi Biji Jintan Hitam.....	9
2.2 Kandungan Logam Dalam Biji Jintan Hitam.....	10
4.1 Hasil Pengamatan Makroskopis Biji Jintan Hitam.....	45
4.2 Hasil Standarisasi Serbuk Biji Jintan Hitam.....	46
4.3 Hasil Standarisasi Ekstrak Etanol Biji <i>Nigella sativa</i>	48
4.4 Hasil Skrining Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam.....	48
4.5 Rerata Jumlah Pembuluh Darah Secara Makroskopis Pada Membran Korioalantois Telur Ayam Berembrio Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>).....	51
4.6 Persentase Penurunan Pembuluh Darah Secara Makroskopis Pada Membran Korioalantois Telur Ayam Berembrio Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>).....	52
4.7 Rerata Jumlah Pembuluh Darah Secara Mikroskopis Pada Membran Korioalantois Telur Ayam Berembrio Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>).....	54
4.8 Persentase Penurunan Pembuluh Darah Secara Mikroskopis Pada Membran Korioalantois Telur Ayam Berembrio Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>).....	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Biji Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>).....	8
2.2 Struktur Kimia Senyawa Aktif Biji Jintan Hitam (A) Timokuinon, (B) Timol dan (C) Karvakrol.....	10
2.3 Estimasi Persentase Kasus Baru dan Kematian Akibat Kanker Pada Penduduk Laki-laki dan Perempuan di Dunia Tahun 2012.....	19
2.4 Mekanisme Angiogenesis.....	21
2.5 Mekanisme FGF.....	24
2.6 a. Embrio Ayam di Hari ke-4 Setelah Pembuahan; b. Embrio di Hari ke-12 Setelah Pembuahan.....	27
2.7 Embrio Ayam Setelah Diinduksi bFGF. Tanda Panah (→) Menunjukkan Adanya Pertumbuhan Pembuluh Darah di Sekitar <i>Paper Disc</i>	27
2.8 Gambaran Histopatologi Membran Korioalantois Telur Ayam Berembrio Setelah Diinduksi bFGF. Tanda Panah (→) Menunjukkan Pembuluh Darah Baru (Perbesaran 400 kali).....	28
3.1 Alur Penelitian yang Sistematis dari Preparasi Ekstrak Bahan Uji Hingga Pengamatan Hasil Perlakuan Pada Setiap Kelompok.....	41
4.1 Makroskopis Biji Jintan Hitam.....	44
4.2 Serbuk Simplisia Biji Jintan Hitam.....	46
4.3 Ekstrak Kental Biji <i>Nigella sativa</i>	47
4.4 Pengamatan Makroskopis Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>) Sebagai Antiangiogenesis Pada Membran Korioalantois telur ayam berembrio. Tanda (→) Menunjukkan Pertumbuhan pembuluh Darah yang Terbentuk Pada dan Sekitar	

	Halaman
<i>Paper Disc</i>	49
4.5 Diagram Rerata Jumlah Pembuluh Darah Secara Makroskopis Pada Membran Korioalantois Telur Ayam Berembrio Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>).....	51
4.6 Gambaran Histopatologi Membran Korioalantois Telur Ayam Berembrio Pada Setiap Kelompok Perlakuan Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>). Tanda panah (→) Menunjukkan Pembuluh Darah Baru (Pewarnaan H.E, Perbesaran 400X).....	53
4.7 Diagram Rerata Jumlah Pembuluh Darah Secara Mikroskopis Pada Membran Korioalantois Telur Ayam Berembrio Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>).....	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A Tabel Hasil Pengamatan Angiogenesis Secara Makroskopis.....	73
B Tabel Hasil Pengamatan Angiogenesis Secara Mikroskopis.....	74
C Analisis statistik penghitungan jumlah pembuluh darah membran Koriolantaois secara makroskopis.....	75
D Analisis Statistik Penghitungan Jumlah Pembuluh Darah MembranKoriolantaois Secara Makroskopis.....	77
E Dokumentasi Kegiatan Penelitian.....	79
F Perhitungan Bahan Untuk Implantasi Telur Ayam Berembrio.....	85
G Perhitungan Rendemen Ekstraksi.....	87
H Perhitungan Pemeriksaan Karakterisasi Biji Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>).....	88
I Lokasi Penelitian.....	96
J Proses Pembuatan Preparat Histologi.....	97
K Surat Keterangan Identifikasi.....	102

SINGKATAN

Singkatan

aFGF	=	<i>acidic Fibroblast growth factor</i>
bFGF	=	<i>basis Fibroblast Growth Factor</i>
Atom C	=	Atom carbon (karbon)
BPOM	=	Badan Pengawas Obat dan Makanan
CAM	=	<i>Chorio Allantoic Membrane</i>
Cd	=	Kadmium
cm	=	Centimeter
COX-2	=	<i>Cyclooxygenase 2</i>
Depkes	=	Departemen Kesehatan
Dirjen	=	Direktorat Jenderal
DMBA	=	7,12-dimetilbenz-(a)-antrasen
DMSO	=	<i>Dimethyl Sulfoxide</i>
DNA	=	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
FDA	=	<i>Food and Drug Administration</i>
FGF	=	<i>Fibroblast Growth Factor</i>
FGFR	=	<i>Fibroblast growth factor receptors</i>
g	=	Gram
G ₂ /M	=	Gap 2/mitosis
HCl	=	Hidrogen klorida
Hg	=	<i>Hydrargyrum</i> (air raksa)
HSPGs	=	<i>Heparan Sulfate Proteoglycans</i>
IARC	=	<i>International Agency for Research on Cancer</i>
KCKT	=	Kromatografi cair kinerja tinggi
Kemenkes	=	Kementerian Kesehatan

KG	=	Kromatografi gas
KLT	=	Kromatografi lapis tipis
mg	=	Miligram
mm	=	Milimeter
ng	=	Nanogram
NSAID	=	<i>Non-Steroid Anti-Inflamasi Drug</i>
Pb	=	Timbal
PDGF	=	<i>Platelet Derived Growth Factor</i>
RAL	=	Rancangan acak lengkap
rh bFGF	=	<i>Recombinant human basis Fibroblast Growth Factor</i>
SPF	=	<i>Specific Pathogen Free</i>
TAB	=	Telur ayam berembrio
TGN	=	Tioguanin
UV	=	Ultraviolet
µg	=	Mikrogram
µl	=	Mikroliter
5-FdUMP	=	5-fluoro-2-deoksiuridin monofosfat